

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 31/70, 31/73, 31/575	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 98/23277 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 4. Juni 1998 (04.06.98)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP97/06450 (22) Internationales Anmeldedatum: 19. November 1997 (19.11.97) (30) Prioritätsdaten: 196 49 286.6 28. November 1996 (28.11.96) DE 197 00 796.1 13. Januar 1997 (13.01.97) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN [DE/DE]; Henkelstrasse 67, D-40589 Düsseldorf (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WEITKEMPER, Norbert [DE/DE]; Stürderstrasse 57, D-51375 Leverkusen (DE). FABRY, Bernd [DE/DE]; Danziger Strasse 31, D-41352 Korschenbroich (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: AU, BR, CA, CN, CZ, HU, JP, KR, MX, NO, NZ, PL, RU, SI, SK, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> <i>Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen</i> <i>Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen</i> <i>eintreffen.</i>	
(54) Title: USE OF MIXTURES OF ACTIVE SUBSTANCES, CONTAINING PHYTOSTENOLS AND/OR PHYTOSTENOL ESTERS AND POTENTIATORS, FOR THE PRODUCTION OF HYPOCHOLESTEREMIC AGENTS (54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON WIRKSTOFFMISCHUNGEN, ENTHALTEND PHYTOSTENOLE UND/ODER PHYTOSTENOLESTER UND POTENZIERUNGSMITTEL ZUR HERSTELLUNG VON HYPOC- HOLESTERINÄMISCHEN MITTELN (57) Abstract In order to produce hypocholesteremic agents, mixtures of active substances containing (a) phytostenols and/or phytostenol esters and (b) potentiators, selected from the group which is formed by chitosans, phytostenol sulfates and/or (desoxy)-ribonucleic acids are used. Although the potentiators per se have no or only a slight hypocholesteremic effect, they increase the speed at which the phytostenol esters lower the cholesterol content in serum. By encapsulating the agents in gelatin, said agents can even be administered orally in high doses without any problems occurring. (57) Zusammenfassung Zur Herstellung von hypocholesterinämischen Mitteln wird die Verwendung von Wirkstoffmischungen vorgeschlagen, enthaltend (a) Phytostenole und/oder Phytostenolester und (b) Potenzierungsmittel, ausgewählt aus der Gruppe, die gebildet wird von Chitosanen, Phytostenolsulfaten und/oder (Desoxy)-Ribonucleinsäuren. Obschon die Potenzierungsmittel selbst keine oder eine nur geringe hypocholesterinämische Wirkung besitzen, erhöhen sie die Geschwindigkeit, mit der die Phytostenolester den Gehalt an Cholesterin im Serum erniedrigen. Durch Verkapselung in Gelatine lassen sich die Mittel problemlos auch oral in höheren Dosen verabreichen.		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland		
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

VERWENDUNG VON WIRKSTOFFMISCHUNGEN, ENTHALTEND PHYTOSTENOLE UND/ODER PHYTOSTENOLESTER UND POTENZIERUNGSMITTEL ZUR HERSTELLUNG VON HYPOCHOLESTERINÄMISCHEN MITTELN

Gebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Mischungen aus Phytosterolen bzw. Phytosterolestern und ausgewählten Potenzierungsmitteln zur Herstellung von Mitteln zur Verminderung des Cholesteringehaltes im Serum von Warmblütern.

Stand der Technik

Unter hypochloesterinämischen Wirkstoffen werden Mittel verstanden, die zu einer Verminderung des Cholesteringehaltes im Serum von Warmblütern führen, ohne daß dadurch eine Hemmung oder Verringerung der Bildung von Cholesterin im Blut eintritt. Für diesen Zweck wurden bereits von Peterson et al. in *J.Nutrit.* **50, 191 (1953)** Phytosterole, also pflanzliche Stenole, und deren Ester mit Fettsäuren vorgeschlagen. In die gleiche Richtung weisen auch die Patentschriften **US 3,089,939**, **US 3,203,862** sowie die deutsche Offenlegungsschrift **DE-OS 2035069** (Procter & Gamble). Die Wirkstoffe werden üblicherweise Brat- oder Speiseölen zugesetzt und dann über die Nahrung aufgenommen, wobei die Einsatzmengen jedoch in der Regel gering sind und üblicherweise unter 0,5 Gew.-% liegen, um zu verhindern, daß die Speiseöle eintrüben oder die Stenole bei Zusatz von Wasser ausgefällt werden. Für den Einsatz im Nahrungsmittelbereich, in Kosmetika, pharmazeutischen Zubereitungen und im Agrarsektor werden in der europäischen Patentanmeldung **EP-A1 0289636** (Ashai) lagerstabile Emulsionen der Stenolester in Zucker- oder Polyglycerinestern vorgeschlagen. Die Einarbeitung von Sitostanolestern zur Verminderung des Blutcholesteringehaltes in Margarine, Butter, Mayonnaise, Salatsaucen und dergleichen wird in der Europäischen Patentschrift **EP-B1 0594612** (Raisio) vorgeschlagen.

Von Nachteil ist jedoch, daß die Phytosterolester den Nahrungsmitteln üblicherweise nur in geringen Mengen zugesetzt werden können, da ansonsten die Gefahr besteht, daß sie den Geschmack und/oder die Konsistenz der Mittel beeinträchtigen. Zur nachhaltigen Beeinflussung des Cholesterin-

gehaltenes im Blut wäre jedoch die Aufnahme größerer Mengen Phytostenole bzw. Phytostenolester wünschenswert. Weiterhin verbesserungswürdig ist die Geschwindigkeit, mit der die Stoffe den Gehalt an Cholesterin im Serum vermindern. Die Aufgabe der Erfindung hat folglich darin bestanden, diesen Mängeln abzuhelpfen.

Beschreibung der Erfindung

Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von Wirkstoffmischungen zur Herstellung von hypocholesterinämischen Mitteln mit der Maßgabe, daß man

- (a) Phytostenole und/oder Phytostenolester und
- (b) Potenzierungsmittel, ausgewählt aus der Gruppe, die gebildet wird von Chitosanen, Phytostenolsulfaten und/oder (Desoxy)Ribonucleinsäuren

einsetzt.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß Chitosane, Phytostenolsulfate und/oder Desoxy- bzw. Ribonucleinsäuren, die selbst über keine oder nur sehr geringe hypocholesterinämischen Eigenschaften verfügen, als Potenzierungsmittel für Phytostenole und/oder Phytostenolester wirken, d.h. die Abnahme des Cholesteringehaltes im Serum in Gegenwart von Phytostenolen bzw. Phytostenolestern beschleunigen. In Gelatine verkapselt lassen sich sowohl die Phytostenole und/oder Phytostenolester als auch die Wirkstoffgemische zudem problemlos oral einnehmen.

Phytostenole und Phytostenolester

Unter Phytostenolen (oder synonym Phytosterolen) sind pflanzliche Steroide zu verstehen, die nur am C-3 eine Hydroxylgruppe, sonst aber keine funktionellen Gruppen tragen. In der Regel besitzen die Phytostenole 27 bis 30 Kohlenstoffatome und eine Doppelbindung in 5/6, gegebenenfalls 7/8, 8/9 oder anderen Positionen. Durch Härtung können aus den ungesättigten Stenolen die entsprechenden gesättigten Stanole erhalten werden, die von der Erfindung mitumfaßt werden. Typische Beispiele für geeignete Phytostenole sind Ergostenole, Campestenole, Stigmastenole, Brassicastenole, vorzugsweise Sitostenole bzw. Sitostanole und insbesondere β -Sitostenole bzw. β -Sitostanole. Neben den genannten Phytostenolen werden vorzugsweise deren Ester eingesetzt. Die Säurekomponente der Esters kann auf Carbonsäuren der Formel (I) zurückgehen,

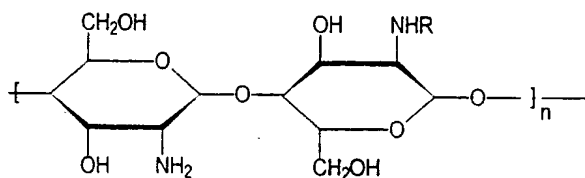
R^1CO-OH

(I)

in der R¹CO für einen aliphatischen, linearen oder verzweigten Acylrest mit 2 bis 22 Kohlenstoffatomen und 0 und/oder 1, 2 oder 3 Doppelbindungen steht. Typische Beispiele sind Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Capronsäure, Caprylsäure, 2-Ethylhexansäure, Caprinsäure, Laurinsäure, Isotridecansäure, Myristinsäure, Palmitinsäure, Palmoleinsäure, Stearinsäure, Isostearinsäure, Ölsäure, Elaidinsäure, Petroselinsäure, Linolsäure, Linolensäure, Elaeostearinsäure, Arachinsäure, Gadoleinsäure, Behensäure und Erucasäure sowie deren technische Mischungen, die z.B. bei der Druckspaltung von natürlichen Fetten und Ölen, bei der Reduktion von Aldehyden aus der Roelen'schen Oxosynthese oder der Dimerisierung von ungesättigten Fettsäuren anfallen. Bevorzugt sind technische Fettsäuren mit 12 bis 18 Kohlenstoffatomen wie beispielsweise Kokos-, Palm-, Palmkern- oder Talgfettsäure. Besonders bevorzugt ist der Einsatz von Estern des β -Sitostenols bzw. β -Sito- stanols mit Fettsäuren mit 12 bis 18 Kohlenstoffatomen. Diese Ester können sowohl durch direkte Veresterung der Phytostenole mit den Fettsäuren oder aber durch Umesterung mit Fettsäureniedrigalkylestern oder Triglyceriden in Gegenwart geeigneter Katalysatoren, wie z.B. Natriumethylat oder speziell auch Enzymen hergestellt werden [vgl. EP-A2 0195311 (Yoshikawa)].

Chitosane

Chitosane, die die Komponente (b1) bilden, stellen Biopolymere dar und werden zur Gruppe der Hydrokolloide gezählt. Chemisch betrachtet handelt es sich um partiell deacetylierte Chitine unterschiedlichen Molekulargewichtes, die den folgenden - idealisierten - Monomerbaustein (II) enthalten:



(II)

Im Gegensatz zu den meisten Hydrokolloiden, die im Bereich biologischer pH-Werte negativ geladen sind, stellen Chitosane unter diesen Bedingungen kationische Biopolymere dar. Die positiv geladenen Chitosane können mit entgegengesetzt geladenen Oberflächen in Wechselwirkung treten und werden daher in kosmetischen Haar- und Körperpflegemitteln sowie pharmazeutischen Zubereitungen eingesetzt (vgl. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 5th Ed., Vol. A6, Weinheim, Verlag Chemie, 1986, S. 231-332). Übersichten zu diesem Thema sind auch beispielsweise von B.Gesslein et al. in HAPPI 27, 57 (1990), O.Skaugrud in Drug Cosm.Ind. 148, 24 (1991) und E.Onsoyen et al. in Seifen-Öle-Fette-Wachse 117, 633 (1991) erschienen. Zur Herstellung der Chitosane geht man von Chitin, vorzugsweise den Schalenresten von Krustentieren aus, die als billige Rohstoffe in großen Mengen zur Verfügung stehen. Das Chitin wird dabei in einem Verfahren das erstmals von Hackmann et al. beschrieben worden ist, üblicherweise zunächst durch Zusatz von Basen deproteiniert, durch

Zugabe von Mineralsäuren demineralisiert und schließlich durch Zugabe von starken Basen deacetyliert, wobei die Molekulargewichte über ein breites Spektrum verteilt sein können. Vorzugsweise werden entweder niedermolekulare Chitosane mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von etwa 50.000 bis etwa 250.000 Dalton oder hochmolekulare Chitosane mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von etwa 500.000 bis etwa 2.000.000 eingesetzt. Entsprechende Verfahren sind beispielsweise aus **Makromol.Chem. 177, 3589 (1976)** oder der französischen Patentanmeldung **FR-A 2701266** bekannt. Besonders bevorzugt werden solche Typen eingesetzt, wie sie in den deutschen Patentanmeldungen **DE-A1 4442987** und **DE-A1 19537001** (Henkel) offenbart werden und die ein durchschnittliches Molekulargewicht von 800.000 bis 1.200.000 Dalton, eine Viskosität nach Brookfield (1 Gew.-%ig in Glycolsäure) unterhalb von 5000 mPas, einen Deacetylierungsgrad im Bereich von 80 bis 88 % und einem Aschegehalt von weniger als 0,3 Gew.-% aufweisen. Neben den Chitosanen als typischen kationischen Biopolymeren kommen im Sinne der Erfindung auch anionisch bzw. nichtionisch derivatisierte Chitosane, wie z.B. Carboxylierungs-, Succinylierungs- oder Alkoxylierungsprodukte in Frage, wie sie beispielsweise in der deutschen Patentschrift **DE-C2 3713099** (L'Oréal) sowie der deutschen Patentanmeldung **DE-A1 19604180** (Henkel) beschrieben werden.

Phytostenolsulfate

Phytostenolsulfate, die die Komponente (b2) bilden, stellen bekannte Stoffe dar, die beispielsweise durch Sulfatierung von Phytostenolen mit einem Komplex aus Schwefelttrioxid und Pyridin in Benzol hergestellt werden können [vgl. **J.Am.Chem.Soc. 63, 1259 (1941)**]. Typische Beispiele sind die Sulfate von Ergostenolen, Campestenolen, Stigmastenolen und Sitostenolen. Die Phytostenolsulfate können als Alkali- und/oder Erdalkalimetallsalze, als Ammonium-, Alkylammonium-, Alkanolammonium- und/oder Glucammoniumsalze vorliegen. In der Regel werden sie in Form ihrer Natriumsalze eingesetzt.

(Desoxy)Ribonucleinsäuren

Unter (Desoxy)Ribonucleinsäuren (DNA bzw. RNA), die die Komponente (b3) bilden, werden hochmolekulare, fadenförmige Polynucleotide verstanden, die sich von 2'-Desoxy- β -D-ribonucleosiden bzw. D-Ribonucleosiden ableiten, die ihrerseits wieder von äquivalenten Mengen einer Nucleobase und der Pentose 2-Desoxy-D-ribofuranose bzw. D-Ribofuranose aufgebaut werden. Als Nucleobasen können die DNA bzw. RNA die Purinderivate Adenin und Guanin sowie die Pyrimidine Cytosin und Thymin bzw. Uracil enthalten. In den Nucleinsäuren sind die Nucleobasen N-glykosidisch mit Kohlenstoffatom 1 der Ribose, wodurch im Einzelfall Adenosine, Guanosine, Cytidine und Thimidine entstehen. In den Säuren verknüpft eine Phosphatgruppe die 5'-Hydroxygruppe der Nucleoside mit der 3'-OH-Gruppe der jeweils folgenden durch eine Phosphodiesterbrücke unter Ausbildung von Einzelstrang-DNA bzw. -

RNA. Wegen des großen Verhältnisses von Länge zu Durchmesser neigen DNA- bzw. RNA-Moleküle schon bei mechanischer Beanspruchung, etwa bei der Extraktion, zu Strangbruch. Aus diesem Grunde kann das Molekulargewicht der Nucleinsäuren 10^3 bis 10^9 Dalton reichen. Im Sinne der Erfindung werden konzentrierte DNA bzw. RNA-Lösungen eingesetzt, die sich durch ein flüssigkristallines Verhalten auszeichnen. Vorzugsweise werden Desoxy- bzw. Ribonucleinsäuren eingesetzt, die aus marinen Quellen beispielsweise durch Extraktion von Fischsperma erhalten werden und die ein Molekulargewicht im Bereich von 40.000 bis 1.000.000 Dalton aufweisen.

Gewerbliche Anwendbarkeit

Die Wirkstoffmischungen der Erfindung können die Phytostenole und/oder Phytostenolester und die Potenzierungsmittel im Gewichtsverhältnis 99 : 1 bis 1 : 99, vorzugsweise 90 : 10 bis 10 : 90, insbesondere 70 : 25 bis 25 : 75 und besonders bevorzugt 60 : 40 bis 40 : 60 enthalten, wobei allein sicherzustellen ist, daß mit der erfindungsgemäßen Verwendung eine zur Senkung des Cholesteringehaltes im Blut ausreichende Menge der Komponente (a) aufgenommen wird. In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung werden die Wirkstoffmischungen in an sich bekannter Weise in Gelatine verkapselt, wobei man die Komponenten (a) und (b) jeweils in Mengen von 0,1 bis 50, vorzugsweise 1 bis 30, insbesondere 5 bis 25 und besonders bevorzugt 10 bis 15 Gew.-% - bezogen auf das Gewicht der Gelatine kapseln - einsetzt. Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft die Erkenntnis, daß die Verkapselung der Phytostenole und/oder Phytostenolester in Gelatine bereits eine vorteilhafte Ausführungsform für die orale Aufnahme der Wirkstoffe darstellt.

Eine weitere Verabreichungsform der Wirkstoffmischungen sind Zäpfchen, die rektal oder vaginal eingeführt werden können, und als Suppositoriengrundmasse ebenfalls Gelatine, gegebenenfalls in Kombination mit Glycerin, oder aber synthetische Fette bzw. Wachse, Polyethylenglycole oder natürliche Bestandteile wie z.B. Kakaobutter enthalten können.

Daneben ist es möglich, die Mischungen in üblichen Nahrungsmitteln zu lösen bzw. zu dispergieren, als da beispielsweise sind : Salatöle, Dressings, Mayonnaisen, Margarinen, Butter, Fritierfette, Kakaoprodukte, Wurst und dergleichen.

Beispiele

Beispiele 1 bis 16, Vergleichsbeispiele V1 bis V4

Es wurden Gelatinekapseln (Gewicht ca. 1,5 g) mit einem Gehalt von 5 bzw. 10 Gew.-% β -Sitostanol bzw. β -Sitostanolester und gegebenenfalls 5 bzw. 10 Gew.-% der verschiedenen Potenzierungsmittel sowie 0,5 Gew.-% radioaktiv markiertem Cholesterin hergestellt. Zur Untersuchung der hypocholesterinämischen Wirkung ließ man männliche Ratten (Einzelgewicht ca. 200 g) über Nacht fasten. Am folgenden Tag wurde den Versuchstieren jeweils eine zerkleinerte Gelatinekapsel mit etwas kochsalzhaltigem Wasser über eine Magensonde eingeführt. Nach 3, 6, 12, 24 und 48 h wurde den Tieren Blut abgenommen und der Gehalt an radioaktivem Cholesterin bestimmt. Die Ergebnisse, die den Mittelwert der Messungen von 10 Versuchstieren darstellen, sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengefaßt. Die Angaben zur Abnahme der Radioaktivität verstehen sich jeweils in Bezug auf eine Blindgruppe von Versuchstieren, denen lediglich Gelatinekapseln mit einem Gehalt von 20 Gew.-% Vitamin E und einer entsprechenden Menge radioaktiv markiertem Cholesterin verabreicht worden war. Die Mischungen 1 bis 16 sind erfindungsgemäß, die Mischungen V1 bis V4 dienen dem Vergleich.

Tabelle 1

Hypocholesterinämische Wirkung (Mengenangaben als Gew.-% bezogen auf Gelatinekapsel)

Zusammensetzung/Aktivität	V1	1	2	3	4	V2	5	6	7	8
β -Sitostanol	5	5	5	5	5	10	10	10	10	10
Chitosan	-	5	-	-	-	-	5	-	-	-
β -Sitostenolsulfat-Natriumsalz	-	-	5	-	-	-	-	5	-	-
Marine DNA (M = 150.000)	-	-	-	5	-	-	-	-	5	-
Radioaktivität [%-rel]										
- nach 3 h	93	93	93	93	93	92	92	92	91	91
- nach 6 h	83	80	82	82	81	78	76	75	75	74
- nach 12 h	75	70	72	73	71	61	55	57	57	59
- nach 24 h	50	44	45	46	45	35	27	29	38	30
- nach 48 h	32	22	26	25	24	21	16	18	18	19

Tabelle 2

Hypocholesterinämische Wirkung (Mengenangaben als Gew.-% bezogen auf Gelatinekapsel)

Zusammensetzung/Aktivität	V3	9	10	11	12	V4	13	14	15	16
Laurinsäure- β -sitostanolester	5	5	5	5	5	10	10	10	10	10
Succinyliertes Chitosan	-	5	-	-	-	-	5	-	-	-
Chitosan	-	-	5	-	-	-	-	5	-	-
β -Sitostenolsulfat-Natriumsalz	-	-	-	5	-	-	-	-	5	-
Marine DNA (M = 150.000)	-	-	-	-	5	-	-	-	-	5
Radioaktivität [%-rel]										
- nach 3 h	95	94	94	94	94	93	91	91	91	91
- nach 6 h	84	83	83	83	82	79	80	76	76	75
- nach 12 h	76	71	72	72	72	62	60	58	57	58
- nach 24 h	51	44	45	45	46	34	31	29	39	29
- nach 48 h	30	28	25	26	25	20	20	17	17	18

Patentansprüche

1. Verwendung von Wirkstoffmischungen zur Herstellung von hypocholesterinämischen Mitteln, **dadurch gekennzeichnet**, daß man
 - (a) Phytostenole und/oder Phytostenolester und
 - (b) Potenzierungsmittel, ausgewählt aus der Gruppe, die gebildet wird von Chitosanen, Phytostenolsulfaten und/oder (Desoxy)Ribonucleinsäuren

einsetzt.

2. Verwendung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Komponente (a) β -Sitostenol, β -Sitostanol oder deren Ester einsetzt.
3. Verwendung nach den Ansprüchen 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Komponente (a) Ester von β -Sitostenol bzw. β -Sitostanol mit Carbonsäuren der Formel (I) einsetzt,

R¹CO-OH

(I)

in der R¹CO für einen aliphatischen, linearen oder verzweigten Acylrest mit 2 bis 22 Kohlenstoffatomen und 0 und/oder 1, 2 oder 3 Doppelbindungen steht.

4. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Komponente (a) Ester von β -Sitostenol bzw. β -Sitostanol mit Fettsäuren mit 12 bis 18 Kohlenstoffatomen einsetzt.
5. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Komponente (b1) Chitosane mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht im Bereich von 50.000 bis 250.000 bzw. 500.000 bis 2.000.000 Dalton einsetzt.
6. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Komponente (b1) succinylierte Chitosane einsetzt.
7. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Komponente (b3) marine Desoxyribonucleinsäuren einsetzt, die ein Molekulargewicht im Bereich von 40.000 bis 1.000.000 Dalton aufweisen.

8. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Komponenten (a) und (b) im Gewichtsverhältnis 99 : 1 bis 1 : 99 einsetzt.
9. Verwendung nach den Ansprüchen 1 bis 8, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Komponenten (a) und (b) in Gelatine verkapselt.
10. Verwendung nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Komponenten (a) und (b) jeweils in Mengen von 0,1 bis 50 Gew.-% - bezogen auf das Gewicht der Gelatine kapseln - einsetzt.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 97/06450

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K31/70 A61K31/73 A61K31/575

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 94 01413 A (BORON BIOLOG INC ;UNIV DUKE (US)) 20 January 1994 see page 16, line 6-25 -----	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 April 1998

Date of mailing of the international search report

24. 04. 98

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Leherte, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 97/06450

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 1-4, 8-9
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Due to the large number of compounds which define the claims the search has been restricted to the general, inventive concept and the substances cited in the examples of the description.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 97/06450

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9401413 A	20-01-94	US 5362732 A	08-11-94
		AU 4658593 A	31-01-94
		EP 0649411 A	26-04-95
		US 5659027 A	19-08-97

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 97/06450

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 A61K31/70 A61K31/73 A61K31/575

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 94 01413 A (BORON BIOLOG INC ;UNIV DUKE (US)) 20.Januar 1994 siehe Seite 16, Zeile 6-25 -----	1-10



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

7. April 1998

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

24. 04. 98

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Leherte, C

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 97/06450

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 1 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr. 1-4 8-9
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Wegen der grossen Zahl der Verbindungen, die die Ansprüchen definieren, wurde die Recherche auf das allgemeine erfinderische Konzept und die in die Beispielen der Beschreibung genannten Substanzen beschränkt.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internationale Recherchenbehörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 97/06450

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9401413 A	20-01-94	US 5362732 A	08-11-94
		AU 4658593 A	31-01-94
		EP 0649411 A	26-04-95
		US 5659027 A	19-08-97

This Page Blank (uspto)